

**METHOD AND DEVICE FOR MIXING SAMPLES NEAR THE  
INTERFACE IN BIOSENSOR SYSTEMS**

[71] Applicant: BIOTUL AG

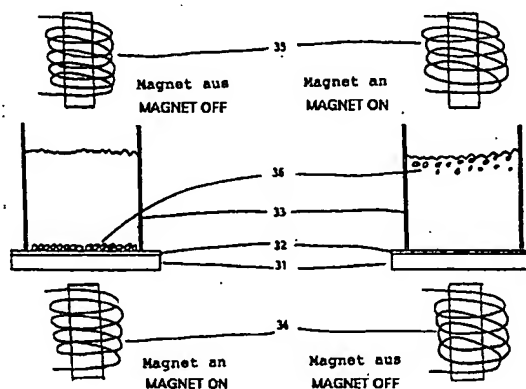
[72] Inventors: BRINK, Gunnar;  
GROLL, Henning; TITTEL,  
Jakob

[21] Application No.: EP9905813

[22] Filed: 19990810

[43] Published: 20000224

[30] Priority: DE 198 19980810



[Go to Fulltext](#)

[Get PDF](#)

[57] Abstract:

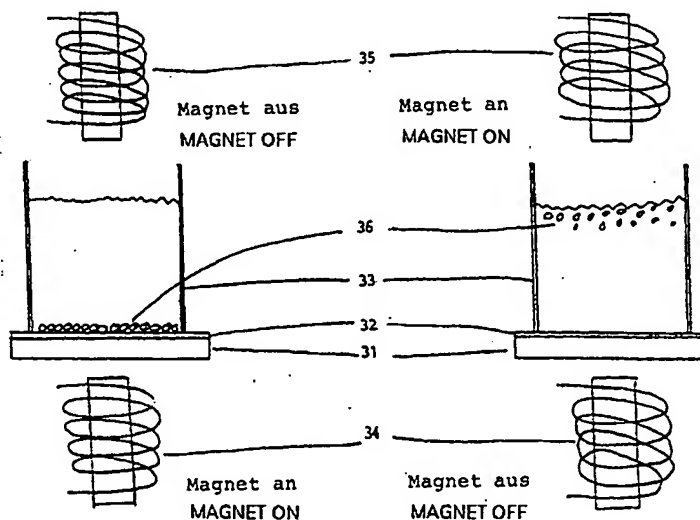
The invention relates to a device and a method for mixing liquids near the interface in a biosensor. Mixing is effected by moving magnetic marbles or by movable webs.

[51] Int'l Class: B01F01100 B01F01308 G01N02155 G01N03510

<p>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> : G01N 21/55, B01F 13/00</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/09991</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 24. Februar 2000 (24.02.00)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/05813</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 10. August 1999 (10.08.99)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 198 36 109.2      10. August 1998 (10.08.98)      DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BIOTUL AG [DE/DE]; Gollierstrasse 70 B, D-80339 München (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BRINK, Gunnar [DE/DE]; Ganghofer Strasse 46, D-80339 München (DE). GROLL, Henning [DE/DE]; Dortmunder Strasse 27, D-57439 Attendorn (DE). TITTEL, Jakob [DE/DE]; Wörthstrasse 13, D-81667 München (DE).</p> <p>(74) Anwalt: VOSSIUS &amp; PARTNER; Siebertstrasse 4, D-81675 München (DE).</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, CN, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht.</p>

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR MIXING SAMPLES NEAR THE INTERFACE IN BIOSENSOR SYSTEMS

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUR GRENZFLÄCHENNAHEN MISCHUNG VON PROBEN IN BIOSENSORSYSTEMEN



(57) Abstract

The invention relates to a device and a method for mixing liquids near the interface in a biosensor. Mixing is effected by moving magnetic marbles or by movable webs.

(57) Zusammenfassung

Durch die Erfindung wird eine Vorrichtung und ein Verfahren zum grenzflächennahen Mischen von Flüssigkeiten in einem Biosensor bereitgestellt. Dieses Durchmischen erfolgt mittels Bewegung von magnetischen Kügelchen oder mittels beweglichen Netzen.

### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

### Vorrichtung und Verfahren zur grenzflächennahen Mischung von Proben in Biosensorsystemen

Die Erfindung betrifft Vorrichtungen und Verfahren zur grenzflächennahen Mischung von Proben in Biosensorsystemen, insbesondere von Sensorsystemen, die Oberflächenbindungsreaktionen als sensorische Reaktion verwenden. Insbesondere betrifft die Erfindung eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Durchmischung von Substanzen in einem Biosensor, vorzugsweise in einem Oberflächenplasmonenresonanzsensor.

Es sind verschiedene Verfahren bekannt, eine Flüssigkeit in einem optischen Biosensor an der optischen Meßoberfläche anzukoppeln. Ein erstes Verfahren betrifft ein Küvettensystem, in dem eine Kammer oder ein Topf verwendet wird, bei dem eine Seitenwand oder der Boden die Sensoroberfläche bildet. Ein zweites Verfahren betrifft ein Flußsystem, bei dem über Flußkanäle die Flüssigkeit an der Meßoberfläche vorbeigepumpt wird. Dabei wird häufig ein Flow-Injection-Analysis-Verfahren verwendet und die Flüssigkeit wird häufig in einer

Flüssigkeitsschleife über die Meßoberfläche geführt. Das hiervon bevorzugte System ist das Küvettensystem, die Erfindung findet aber auch Anwendung bei einem Flußsystem. Ein drittes Verfahren verwendet einen faseroptischen Sensor (wie beispielsweise in der DE-A-40 33 741 gezeigt), bei dem eine Glasfaser oder ein anderes optisches Element in den Flüssigkeitsstrom oder in die stehende Flüssigkeit eingetaucht wird.

Optische Biosensoren beruhen in der Regel darauf, daß Partikel (Moleküle, Bakterien, Viren, usw.) über eine Ligand-Rezeptor-Wechselwirkung an die optische Meßoberfläche gebunden werden, wodurch sich unter anderem die optische Schichtdicke eines dünnen Filmes auf der Meßoberfläche verändert. Diese Veränderung wird über ein optisches Verfahren nachgewiesen. Das optische Signal ist ein Maß für die Bindungsstärke oder die Konzentration der bindenden Partner. Die Bindung wird in der Nähe der Oberfläche durch die zur Verfügung stehende Konzentration an bindenden Molekülen bestimmt. Haben sich aufgrund vorangegangener Bindungsereignisse Moleküle oder größere Partikel aus der Flüssigkeit bereits an die Oberfläche gebunden, tritt lokal in unmittelbarer Nähe der Oberfläche (bis 1 - 10  $\mu\text{m}$ ) eine Verarmung (depletion) oder ein Konzentrationsgefälle auf, welches die weitere Messung verfälscht. Insbesondere wenn kinetische Phänomene gemessen werden sollen, werden also häufig nicht Reaktionsgeschwindigkeiten, sondern die Diffusion gemessen. Beim gewöhnlichen Mischen mit z.B. Rühren liegt in der Nähe der Oberfläche in der Regel ein laminarer Flüssigkeitsstrom vor und aufgrund von Newton-Reibung findet an der Sensoroberfläche keine ausreichende Durchmischung mit übrigem Meßvolumen statt. Bei Meßvorrichtungen mit Flußkammern kann dieses Problem dadurch gelöst werden, daß Flüssigkeitsströme mit unterschiedlicher Geschwindigkeit über die Oberfläche geführt werden und aus den erhaltenen Daten extrapoliert wird, welche Bindungskinetiken auftraten, falls ein beliebiger Austausch d.h. optimale Durchmischung mit der Meßflüssigkeit erfolgen würde.

In der Regel beträgt die Diffusionsgeschwindigkeit im Volumen weniger als 1  $\mu\text{m}/\text{sec}$ . Wenn das Oberflächensignal mit einer Taktfrequenz von etwa 1 bis 10 Hz gemessen wird, ist davon auszugehen, daß ein Raum von mehreren  $\mu\text{m}$  Höhe über der Meßoberfläche möglichst gut in eine Flüssigkeitsstromverbindung mit dem Rest des Volumens gebracht werden muß, um korrekte Meßwerte zu erhalten.

Demgegenüber liegt der Erfindung die Aufgabe zugrunde, verbesserte Meßvorrichtungen und Meßverfahren bereitzustellen. Diese Aufgabe wird mit den Merkmalen der Ansprüche gelöst.

Bei der Lösung geht die Erfindung von dem Grundgedanken aus, einen Flüssigkeitsaustausch bzw. eine Durchmischung der Flüssigkeit in unmittelbarer Nähe der Oberfläche (d.h. wenige  $\mu\text{m}$ ) zu erzeugen. Dabei werden Körper in einem Feld in einer oder mehreren Richtungen hin- und herbewegt und/oder um eine Achse rotiert.

In einer ersten erfindungsgemäßen Ausführungsform erfolgt das Durchmischen mit magnetischen Körpern oder Beads. Diese Körper, Beads oder Kügelchen bestehen vorzugsweise aus einem superparamagnetischen Material und schwimmen in der zu untersuchenden Flüssigkeit. Bevorzugt bestehen die Körper aus Eisenoxid, das mit verschiedenen Ummantelungen versehen ist. Diese Hüllen können entweder gezielt funktionalisiert werden oder so ausgelegt sein, daß keine unspezifische Adsorption stattfindet. Vorzugsweise besteht eine solche Hülle aus Dextran. Der Durchmesser dieser Körper liegt vorzugsweise in einem Bereich von ca. 50 nm bis zu einigen 1/10 mm.

Bei dieser Ausführungsform erfolgt das Durchmischen über ein Anlegen von Magnetfeldern, wodurch die superparamagnetischen Körper in der Flüssigkeit berührungslos bewegt werden. Beispielsweise werden zwei verschiedene Magnetfelder angelegt, wobei ein Magnetfeld unterhalb der Sensorfläche und das an-

dere Magnetfeld oberhalb angeordnet ist. Beispielsweise werden die Magnetfelder durch eine Magnetspule unter der Goldschicht eines Oberflächenplasmonenresonanzsensors und durch eine Magnetspule in Höhe der Mitte einer Küvette erzeugt. Durch Anlegen eines Magnetfeldes werden paramagnetische Körper in Richtung größerer Feldstärke hingezogen. In einem sich ändernden Magnetfeld werden die Körper von der Sensoroberfläche in die Flüssigkeit hinein und wieder zurück an die Sensoroberfläche bewegt, wodurch eine sehr gute Durchmischung an der Sensoroberfläche stattfindet. Der Vorteil dieser superparamagnetischen Körper besteht darin, daß diese ihren Magnetismus verlieren, sobald kein von außen angelegtes Magnetfeld mehr vorliegt. Somit wird eine eventuelle Verfälschung der Messung durch Magnetfelder ausgeschlossen. Vorzugsweise liegt die Größe der Körper im Bereich von wenigen  $\mu\text{m}$ , da sie so etwa die gleiche Größe haben, wie die Dicke der Verarmungsschicht und somit tief in diese eindringen, wenn sie durch die Magnetfelder an die Oberfläche gezogen werden.

Alternativ können ferromagnetische Körper verwendet werden. Durch Anlegen eines geeigneten Magnetfeldes können ferromagnetische Körper um eine eigene Achse oder eine beliebige Achse gedreht werden. Wenn die Körper um die eigene Achse gedreht werden sollen, werden vorzugsweise Körper mit unsymmetrischer Form eingesetzt. Durch die Drehung der Körper wird eine Durchmischung der Flüssigkeit bewirkt.

Weiterhin können die Körper, Beads bzw. die Kügelchen dazu genutzt werden, den Startzeitpunkt einer Affinitätsmessung und somit den Startzeitpunkt der Reaktion festzulegen. Dazu ist in den folgenden Schritten vorzugehen.

Beim ersten Schritt enthält die Küvette entweder eine Pufferlösung oder eine Regeneratorlösung, in der die Körper frei herumschwimmen. Anschließend werden die Körper durch ein Magnetfeld an die Sensoroberfläche gezogen, bevor die

Lösung abgesaugt wird. Dabei liegen in der Lösung vorzugsweise so viele Körper vor, daß bei angelegtem Magnetfeld ca. 2 bis 5 Monolagen-Körper auf der Oberfläche liegen. Anschließend wird der Puffer oder Regenerator abgesaugt und der Analyt hinzugegeben. Da auf der Oberfläche die Körper liegen, kann der Analyt nicht bis an die Oberfläche vordringen und die Reaktion ist vorerst unterbunden. Die zu untersuchende Oberflächenreaktion kann nun gezielt gestartet werden, in dem die Körper von der Oberfläche abgezogen werden. Dieses gezielte Starten der Reaktion ist für die Bestimmung der kinetischen Daten von Enzymreaktionen von großem Vorteil.

In einer zweiten erfindungsgemäßen Ausführungsform erfolgt das Durchmischen der Flüssigkeit mit beweglichen Netzen. Dazu sind in den Boden der Küvette, also nahe der Goldschicht, ein oder mehrere Netze eingezogen, die entweder magnetisch, piezoelektrisch oder akustisch bewegt werden können. Diese Netze liegen schon im Ruhezustand nahe an der Oberfläche oder auf der Oberfläche der Flüssigkeit, wodurch bei deren Bewegung eine gute Durchmischung stattfindet.

Die Erfindung wird nachstehend mit bezug auf die Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1a u. b eine erste erfindungsgemäße Ausführungsform, bei der das Durchmischen mit magnetischen Beads erfolgt;

Fig. 2a u. b eine zweite erfindungsgemäße Ausführungsform, bei der das Durchmischen mit magnetischen Beads erfolgt und

Fig. 3 eine dritte erfindungsgemäße Ausführungsform, bei der zum Durchmischen bewegliche Netze verwendet werden.

Figuren 1a und b zeigen die gleiche erfindungsgemäße erste Ausführungsform. Unterschiede bestehen nur hinsichtlich der



unterschiedlich angelegten Magnetfelder. In Figuren 1a und b ist ein Substrat 31 mit einer Sensoroberfläche 32 gezeigt. Die Sensoroberfläche ist bevorzugt eine Goldoberfläche. Auf dieser Sensoroberfläche 32 befindet sich eine Küvette 3, die mit Flüssigkeit gefüllt ist. In der Flüssigkeit befinden sich paramagnetische bzw. superparamagnetische Beads. Beide Figuren 1a und b zeigen schematisch den unterhalb der Sensoroberfläche angeordneten Magnetfelderzeuger 34, sowohl den über der Küvette angeordneten Magnetfelderzeuger 35. Der Magnetfelderzeuger 35 ist in Figuren 1a und 1b bevorzugt oberhalb der Küvette gezeigt. In einer anderen Ausführungsform kann dieser Magnetfelderzeuger auch in mittlerer Höhe um die Küvette herum angeordnet sein. Vorzugsweise werden für die Magnetfelderzeuger 34 und 35 Elektromagneten verwendet. In der in Fig. 1a gezeigten Ausführungsform ist der Magnet 34 unterhalb der Sensoroberfläche aktiviert, während der zweite Magnet 35 kein Magnetfeld erzeugt, bei Verwendung eines Elektromagneten dieser also ausgeschaltet ist. Bei der in Fig. 1b gezeigten Ausführungsform sind die Verhältnisse gerade umgekehrt, d.h. der oberhalb (oder auch um die Flüssigkeit herum) angeordnete Magnet 35 ist aktiviert, während der Magnet 34 deaktiviert ist. Die gemäß der Figuren 1a und b unterschiedlich angelegten Magnetfelder bewirken, daß einerseits die magnetischen Beads sich am Küvettenboden befinden, also unmittelbar über der Sensoroberfläche, während sie gemäß der Figur 1b von der Sensoroberfläche weg in die Flüssigkeit hinein gewandert sind und so für eine Durchmischung der Flüssigkeit sorgen.

Die Meßvorrichtung nach Figuren 2a und b hat einen ähnlichen Aufbau. Diese Meßvorrichtung besitzt ein Substrat 41 mit einer Sensoroberfläche 42, sowie eine Küvette, die mit Flüssigkeit gefüllt ist. Unterhalb der Sensoroberfläche ist ein Magnetfelderzeuger 45, vorzugsweise ein Elektromagnet, gezeigt. In dieser Ausführungsform ist nur dieser eine Magnetfelderzeuger vorgesehen. Die Bewegung der ferromagnetischen Beads in der Flüssigkeit und die daraus resultierende Durch-

mischung der Flüssigkeit wird gemäß dieser Ausführungsform dadurch bewirkt, daß der durch den Magneten fließende Strom in Fig. 2a konstant ist, während gemäß Fig. 2b ein Wechselstrom durch den Magneten fließt.

Die Meßvorrichtung nach Fig. 3 zeigt eine Ausführungsform, bei der die Durchmischung mit beweglichen Netzen erfolgt. Auf der oberhalb des Substrates 51 angeordneten Sensoroberfläche 52 ist eine mit Flüssigkeit gefüllte Küvette 54 vorgesehen. Oberhalb der Sensoroberfläche 52 ist in der Küvette 54 ein bewegliches Netz 53 vorgesehen, das über einen entsprechenden Aktor 56 und einen zwischen dem Netz und dem Aktor befindlichen Koppелеlement 55 bewegt wird. Sowohl der Aktor als auch der Koppler kann mechanischer Natur sein. In einer anderen bevorzugten Ausführungsform ist als Aktor ein Felderzeuger vorgesehen und die Kopplung mit dem beweglichen Netz erfolgt über die entsprechend erzeugten Felder.

## BEZUGSZEICHENBLATT

Re. Fig. 1a und 1b:

- 31 Substrat
- 32 Sensoroberfläche (Goldoberfläche)
- 33 Küvette mit Flüssigkeit gefüllt
- 34 Magnetfelderzeuger, z.B. Elektromagnet
- 35 Magnetfelderzeuger, z.B. Elektromagnet, er muß nicht oberhalb der Küvette sitzen, er kann auch in mittlerer Höhe um die Küvette herum angebracht sein
- 36 (Super) paramagnetische Beads

Re. Fig. 2a und 2b:

- 41 Substrat
- 42 Sensoroberfläche (Goldoberfläche)
- 43 Küvette mit Flüssigkeit gefüllt
- 44 ferromagnetische Beads
- 45 Magnetfelderzeuger, z.B. Elektromagnet

Re. Fig. 3:

- 51 Substrat
- 52 Sensoroberfläche (Goldoberfläche)
- 53 bewegliches Netz
- 54 Küvette mit Flüssigkeit gefüllt
- 55 Koppler (mechanisch oder über Felder)
- 56 Aktor (mechanisch oder Felderzeuger)

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Sensorvorrichtung, die Oberflächenbindungsreaktionen an einer Sensoroberfläche als sensorische Reaktionen verwendet, mit einer Einrichtung (36, 44, 53) zum grenzflächennahen Mischen einer zu untersuchenden Flüssigkeit.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei die Mischeinrichtung magnetische Körper mit symmetrischer Form wie Kügelchen oder mit unsymmetrischer Form aufweist.
3. Vorrichtung nach Anspruch 2, wobei die Körper (36, 44) aus einem paramagnetischen oder superparamagnetischen oder ferromagnetischen Material bestehen.
4. Vorrichtung nach Anspruch 2 oder 3, wobei die Körper (36, 44) aus Eisenoxid bestehen und verschiedene Ummanntelungen aufweisen.
5. Vorrichtung nach Anspruch 2, 3 oder 4, wobei die Körper (36, 44) in der zu untersuchenden Flüssigkeit schwimmen.
6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 2 bis 5, wobei die Körper (36, 44) einen Durchmesser im Bereich von etwa 50 nm bis zu einigen 10tel mm haben.
7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 2 bis 6, wobei mindestens eine erste Einrichtung (34, 45) zum Erzeugen eines Magnetfeldes vorgesehen ist.
8. Verfahren nach Anspruch 7, wobei zwei Einrichtungen (34, 35) zum Erzeugen eines Magnetfeldes vorgesehen sind
9. Vorrichtung nach Anspruch 7 oder 8, wobei die erste Magnetfeldeinrichtung (34, 45) unterhalb der Sensoroberfläche angeordnet ist.

10. Vorrichtung nach Anspruch 8 oder 9, wobei die zweite Magnetfeldeinrichtung (35) oberhalb der Küvette oder um die Küvette herum angeordnet ist.
11. Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei die Mischeinrichtung mindestens ein bewegliche Netz (53) aufweist.
12. Vorrichtung nach Anspruch 11, wobei das Netz (53) mechanisch, magnetisch, piezoelektrisch oder akustisch bewegt werden.
13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, wobei die Einrichtung in der Nähe der Sensoroberfläche 32, 42 52) oder auf der Oberfläche angeordnet ist.
14. Meßverfahren in einem Sensorsystem, das Oberflächenbindungsreaktionen als sensorische Reaktionen verwendet, mit den folgenden Schritten:
  - (a) Durchmischen der zu untersuchenden Flüssigkeit;
  - (b) Durchführen der Messung;wobei zwischen den Schritten (a) und (b) eine vorbestimmte Pause liegt.
15. Verfahren nach Anspruch 14, wobei in Schritt (a) das Durchmischen mit magnetischen Körpern vorzugsweise Kügelchen (36, 44) erfolgt, die in einem Magnetfeld in einer oder mehreren Richtungen hin- und herbewegt, auf einer Kreisbahn oder elliptischen Bahn bewegt und/oder um eine eigene Achse gedreht werden.
16. Verfahren nach Anspruch 15, wobei das Durchmischen durch abwechselndes Aktivieren der ersten und zweiten Magnetfeldeinrichtungen (34, 35) erfolgt.

17. Verfahren nach Anspruch 15, wobei das Durchmischen abwechselndes Anlegen eines Gleichstromes und eines Wechselstromes an die erste Magnetfeldeinrichtung (45) erfolgt
18. Verfahren nach Anspruch 14, wobei in Schritt (a) das Durchmischen mit mindestens einem beweglichen Netz (53) erfolgt.
19. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 18, wobei in Schritt (a) die Durchmischung zusätzlich durch Rühren erfolgt.
20. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 18, wobei in Schritt (a) das Durchmischen zusätzlich durch Ansaugen und Ausstoßen von Flüssigkeit mittels einer Spitze erfolgt.
21. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 18, wobei in Schritt (a) das Durchmischen mit einem Mikro- oder Makroflußsystem kombiniert ist.

Fig. 1a

Fig. 1b

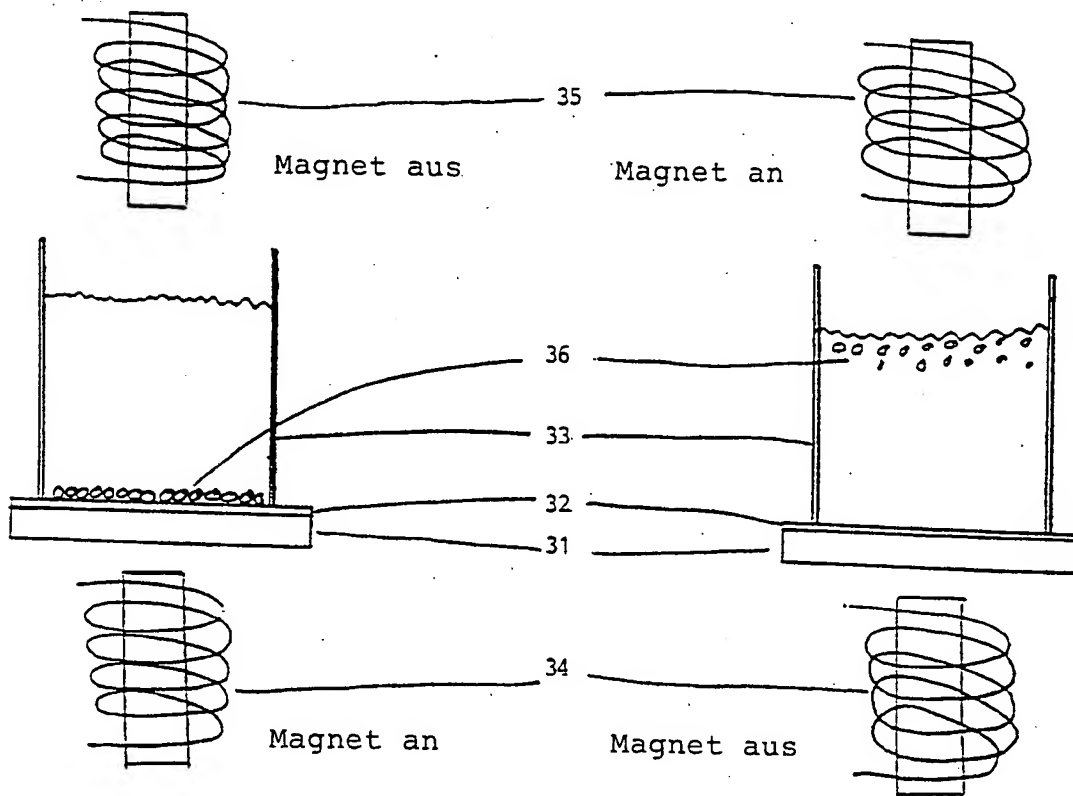


Fig. 2a

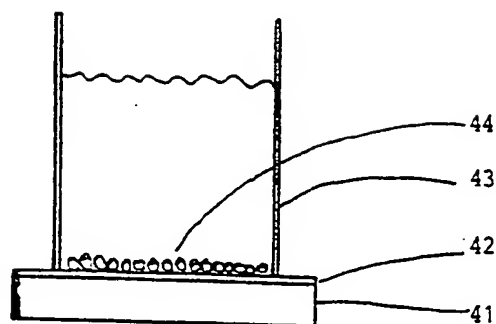
 $I(\text{Magnet}) = \text{const.}$ 

Fig. 2b

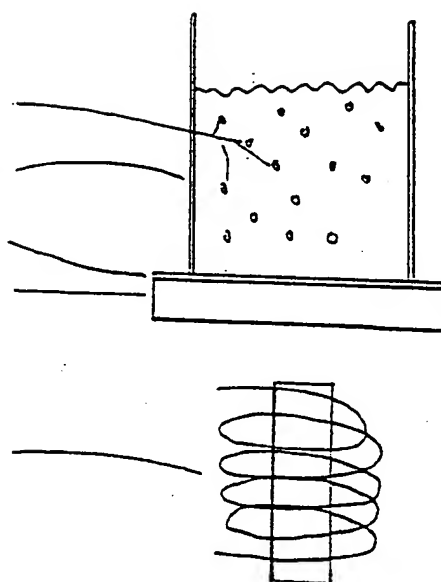
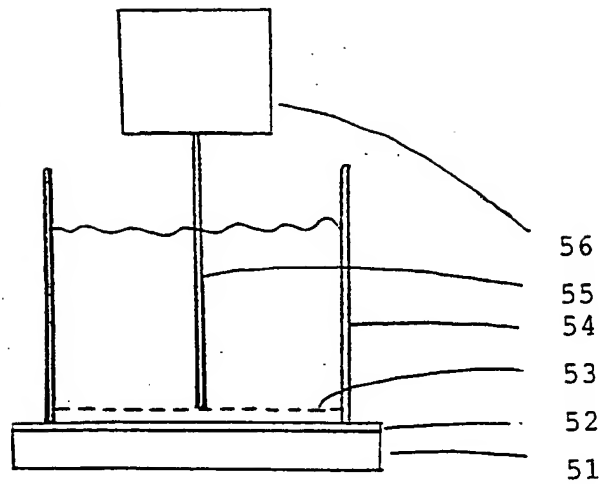
 $I(\text{Magnet}) \neq \text{const.}$ 



Fig. 3



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC., EP 99/05813

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 G01N21/55 B01F13/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N B01F B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 94 28396 A (FISONS PLC ;MOLLOY JAMES OSCAR (GB)) 8 December 1994 (1994-12-08)	1, 13, 14, 19
Y	page 1, paragraph 2	2-11, 18, 20, 21
	page 2, paragraph 2 - paragraph 4	
	page 3, paragraph 2 - paragraph 5; figures 1, 2, 6	
X	page 4, paragraph 5	14
	page 13, paragraph 4	
Y	EP 0 240 862 A (LEO AB)	2-10
	14 October 1987 (1987-10-14)	
	page 2, line 24 - line 29	
	page 5, line 33 - page 6, line 23	
X	page 6, line 22 - line 26	14-16
X	page 8, line 2 - line 32	17
	page 10, line 26 - page 11, line 3	
X	page 11, line 22 - line 30; claims 9, 10	14
	---	
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 November 1999

Date of mailing of the international search report

24/11/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hocquet, A

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC., EP 99/05813

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GB 876 070 A (HOFFMAN-LAROCHE) 30 August 1961 (1961-08-30) page 1, column 2, line 64 - line 89; figure 2 ----	11,18
Y	WO 97 02357 A (AFFYMETRIX INC ;ANDERSON ROLFE C (US); LIPSHUTZ ROBERT J (US); RAV) 23 January 1997 (1997-01-23) page 58, line 5 - line 30 page 59, line 6 - line 13 page 63, line 14 - line 32 ----	21
Y	page 58, line 5 - line 30 page 59, line 6 - line 13 page 63, line 14 - line 32 ----	20
A	US 3 752 443 A (LICHTENSTEIN B) 14 August 1973 (1973-08-14) column 3, line 21 - line 35; figures ----	2-10
A	EP 0 670 483 A (FUJI PHOTO FILM CO LTD) 6 September 1995 (1995-09-06) page 3, line 27 - line 37; figures ----	20
A	DE 40 33 741 A (TITTEL FALKO V E DIPL PHYS) 8 May 1991 (1991-05-08) cited in the application column 3, line 34 - line 62 -----	1,14

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/JP 99/05813

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9428396	A	08-12-1994	DE 69404652 D	04-09-1997
			DE 69404652 T	15-01-1998
			EP 0700513 A	13-03-1996
			EP 0781987 A	02-07-1997
			JP 9505135 T	20-05-1997
			US 5770462 A	23-06-1998
EP 0240862	A	14-10-1987	AT 76780 T	15-06-1992
			AU 592631 B	18-01-1990
			AU 7108687 A	08-10-1987
			CA 1294606 A	21-01-1992
			DE 3779477 A	09-07-1992
			DK 163387 A	08-10-1987
			IE 60018 B	18-05-1994
			JP 62241539 A	22-10-1987
			US 4936687 A	26-06-1990
GB 876070	A		NONE	
WO 9702357	A	23-01-1997	US 5856174 A	05-01-1999
			AU 6404996 A	05-02-1997
			EP 0843734 A	27-05-1998
			JP 11509094 T	17-08-1999
			US 5922591 A	13-07-1999
US 3752443	A	14-08-1973	AU 460038 B	10-04-1975
			AU 4798172 A	26-04-1974
			BE 792113 A	30-05-1973
			CA 956303 A	15-10-1974
			CH 546094 A	28-02-1974
			DE 2260153 A	05-07-1973
			FR 2163483 A	27-07-1973
			GB 1389092 A	03-04-1975
			IT 969622 B	10-04-1974
			JP 48066895 A	13-09-1973
			NL 7214185 A	15-06-1973
			US 3219318 A	23-11-1965
EP 0670483	A	06-09-1995	JP 7239334 A	12-09-1995
			US 5555767 A	17-09-1996
DE 4033741	A	08-05-1991	WO 9106855 A	16-05-1991
			EP 0452439 A	23-10-1991
			JP 4502671 T	14-05-1992

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 G01N21/55 B01F13/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 G01N B01F B01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 94 28396 A (FISONS PLC ;MOLLOY JAMES OSCAR (GB)) 8. Dezember 1994 (1994-12-08)	1,13,14,19
Y	Seite 1, Absatz 2	2-11,18,20,21
	Seite 2, Absatz 2 - Absatz 4	
	Seite 3, Absatz 2 - Absatz 5; Abbildungen 1,2,6	
X	Seite 4, Absatz 5	14
	Seite 13, Absatz 4	
	---	
	-/--	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

16. November 1999

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

24/11/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hocquet, A

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	EP 0 240 862 A (LEO AB) 14. Oktober 1987 (1987-10-14) Seite 2, Zeile 24 - Zeile 29 Seite 5, Zeile 33 - Seite 6, Zeile 23	2-10
X	Seite 6, Zeile 22 - Zeile 26	14-16
X	Seite 8, Zeile 2 - Zeile 32	17
X	Seite 10, Zeile 26 - Seite 11, Zeile 3 Seite 11, Zeile 22 - Zeile 30; Ansprüche 9, 10	14
Y	GB 876 070 A (HOFFMAN-LAROCHE) 30. August 1961 (1961-08-30) Seite 1, Spalte 2, Zeile 64 - Zeile 89; Abbildung 2	11, 18
Y	WO 97 02357 A (AFFYMETRIX INC ; ANDERSON ROLFE C (US); LIPSHUTZ ROBERT J (US); RAV) 23. Januar 1997 (1997-01-23)	21
Y	Seite 58, Zeile 5 - Zeile 30 Seite 59, Zeile 6 - Zeile 13 Seite 63, Zeile 14 - Zeile 32	20
A	US 3 752 443 A (LICHTENSTEIN B) 14. August 1973 (1973-08-14) Spalte 3, Zeile 21 - Zeile 35; Abbildungen	2-10
A	EP 0 670 483 A (FUJI PHOTO FILM CO LTD) 6. September 1995 (1995-09-06) Seite 3, Zeile 27 - Zeile 37; Abbildungen	20
A	DE 40 33 741 A (TITTEL FALKO V E DIPL PHYS) 8. Mai 1991 (1991-05-08) in der Anmeldung erwähnt Spalte 3, Zeile 34 - Zeile 62	1, 14

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung in die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/05813

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9428396	A	08-12-1994	DE	69404652 D	04-09-1997
			DE	69404652 T	15-01-1998
			EP	0700513 A	13-03-1996
			EP	0781987 A	02-07-1997
			JP	9505135 T	20-05-1997
			US	5770462 A	23-06-1998
-----					
EP 0240862	A	14-10-1987	AT	76780 T	15-06-1992
			AU	592631 B	18-01-1990
			AU	7108687 A	08-10-1987
			CA	1294606 A	21-01-1992
			DE	3779477 A	09-07-1992
			DK	163387 A	08-10-1987
			IE	60018 B	18-05-1994
			JP	62241539 A	22-10-1987
			US	4936687 A	26-06-1990
-----					
GB 876070	A		KEINE		
-----					
WO 9702357	A	23-01-1997	US	5856174 A	05-01-1999
			AU	6404996 A	05-02-1997
			EP	0843734 A	27-05-1998
			JP	11509094 T	17-08-1999
			US	5922591 A	13-07-1999
-----					
US 3752443	A	14-08-1973	AU	460038 B	10-04-1975
			AU	4798172 A	26-04-1974
			BE	792113 A	30-05-1973
			CA	956303 A	15-10-1974
			CH	546094 A	28-02-1974
			DE	2260153 A	05-07-1973
			FR	2163483 A	27-07-1973
			GB	1389092 A	03-04-1975
			IT	969622 B	10-04-1974
			JP	48066895 A	13-09-1973
			NL	7214185 A	15-06-1973
			US	3219318 A	23-11-1965
-----					
EP 0670483	A	06-09-1995	JP	7239334 A	12-09-1995
			US	5555767 A	17-09-1996
-----					
DE 4033741	A	08-05-1991	WO	9106855 A	16-05-1991
			EP	0452439 A	23-10-1991
			JP	4502671 T	14-05-1992